FACULTÉ DE MEDECINE DE PARIS

Année 1924 — THÈSE — N°

POUR LE

DOCTORAT DE MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Raymond GIRARD

Interne de Saint-Lazare.

Né à Béthune le 23 Décembre 1894.

RECHERCHES

SUR LES VARIATIONS DU RAPPORT

$\frac{\text{GLOBULINE}}{\text{SÉRINE}}$ DU SÉRUM SANGUIN

AU COURS DE QUELQUES ÉTATS PATHOLOGIQUES

Président : M. A. GILBERT.

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

1924

Faculté de Médecine de Paris

LE DOYEN . . . M. ROGER

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	NICOLAS
Anatomie médico-chirurgicale	CUNEO.
Physiologie	Ch. RICHET
Physique médicale	André BROCA
Chimie organique et Chimie générale	DESGREZ
Bactériologie	BEZANÇON
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	BRUMPT
Pathologie et Thérapeutique générales	Marcel LABBÉ
Pathologie médicale	SICARD
Pathologie chirurgicale	LECENE
Anatomie pathologique	LETULLE
Histologie	PRENANT
Pharmacologie et matière médicale	RICHAUD
Thérapeutique	CARNOT
Hygiène	Léon BERNARD
Médecine légale	BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MENÉTRIER
Pathologie expérimentale et comparée	ROGER
Clinique médicale	GILBERT CHAUFFARD ACHARD WIDAL
Hygiène et clinique de la première enfance	MARFAN
Clinique des maladies des enfants	NOBECOURT
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JEANSELME
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN
Clinique des maladies infectieuses	TEISSIER
Clinique chirurgicale	DELBET HARTMANN LEJARS GOSSET
Clinique ophtalmologique	DE LAPERSONNE
Clinique urologique	LEGUEU
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE BRINDEAU JEANNIN
Clinique gynécologique	J. L. FAURE
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	Aug. BROCA
Clinique thérapeutique médicale	VAQUEZ
Clinique oto-rhino laryngologique	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale	DUVAL
Clinique propédeutique	SERGENT

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.	
ABRAMI. . . .	Pathologie médicale.
ALGLAVE. . . .	Pathologie chirurgicale.
AUBERTIN . . .	Pathologie médicale.
BASSET.	Pathologie chirurgicale.
BAUDOUIN . . .	Pathologie médicale.
BINET.	Physiologie.
BLANCHETIÈRE	Chimie biologique.
BRANCA	Histologie.
BRULÉ	Pathologie médicale.
BUSQUET. . . .	Pharmacologie et matière médicale.
CADENAT. . . .	Pathologie chirurgicale.
CHAMPY	Histologie.
CHIRAY	Pathologie médicale.
CLERC.	Pathologie médicale.
DEBRÉ	Hygiène.
. de JONG. . . .	Anatomie pathologique.
DUVOIR.	Médecine légale.
ÉCALLE.	Obstétrique.
FIESSINGER . .	Pathologie médicale.
FOIX	Pathologie médicale.
GARNIER. . . .	Pathologie expérimentale.
HARVIER. . . .	Pathologie médicale.
HEITZ-BOYER .	Urologie.
HOVELACQUE .	Anatomie.
JOYEUX.	Parasitologie.

MM.	
LABBÉ (Henri). .	Chimie biologique.
LARDENNOIS. .	Pathologie chirurgicale.
LE LORIER. . .	Obstétrique.
LEMAITRE . . .	Oto-rhino-laryngologie.
LEMIERRE . . .	Pathologie médicale.
LÉVY-SOLAL. .	Obstétrique.
LHERMITTE . .	Pathologie mentale.
LIAN.	Pathologie médicale.
MATHIEU. . . .	Pathologie chirurgicale.
METZGER. . . .	Obstétrique.
MOCQUOT . . .	Pathologie chirurgicale.
MONDOR	Pathologie chirurgicale.
MOURE	Pathologie chirurgicale.
MULON	Histologie.
PHILIBERT . . .	Bactériologie.
RIBIERRE. . . .	Pathologie médicale.
RICHET Fils. . .	Physiologie.
ROUVIÈRE . . .	Anatomie.
STROHL.	Physique médicale.
TANON	Pathologie médicale.
TIFFENEAU. . .	Pharmacologie et matière médicale.
VAUDESCAL . .	Obstétrique.
VERNE	Histologie.
VILLARET . . .	Pathologie médicale.
WELTER	Ophtalmologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.	
CAMUS	Physiologie.
GOUGEROT. . .	Pathologie médicale.
GUÉNIOT	Obstétrique.

MM.	
RETTERER. . .	Histologie.
ROUSSY	Anatomie pathologique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE

à titre permanent

MM.	
AUVRAY	Clinique chirurgicale.
CHEVASSU . . .	Clinique chirurgicale.
LAIGNEL-LAVASTINE. . .	Clinique médicale.
LEREBOULLET.	Clinique médicale infantile.
LÉRI.	Clinique médicale.
LŒPER	Clinique médicale.

MM.	
OMBRÉDANNE .	Clinique chirurgicale i fantile.
PROUST.	Clinique chirurgicale.
RATHERY . . .	Clinique médicale.
SCHWARTZ . .	Clinique chirurgicale.
TERRIEN	Cliniq. ophtalmologiqu

V. — CHARGÉS DE COURS

MM. MAUCLAIRE, agrégé	Chargé du cours de chirurgie orthopédique che l'adulte pour les accidentés du travail, l mutilés de guerre et les infirmes adultes.
FREY	Stomatologie.
N..	Éducation physique.
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émis dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme prope à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A la Mémoire de mon Oncle

Le Docteur Gustave de LAGORCE

A la Mémoire de mes GRANDS-PARENTS

A MES PARENTS

MEIS ET AMICIS

A mes Maitres dans les Hopitaux de Paris :

MM. le Docteur Louis RAMOND ;
le Docteur André PETIT ;
le Professeur ROGER ;
le Docteur TRÉMOLIÈRES ;
le Docteur LÉVY-VALENSI ;
le Professeur agrégé L. BINET.

EXTERNAT

MM. le Professeur MERKLEN ;
le Docteur LORTAT-JACOB ;
le Professeur GILBERT ;
le Professeur agrégé M. VILLARET ;
le Docteur CHABROL ;
le Docteur Henri BÉNARD ;
le Docteur Louis FOURNIER ;
le Docteur V. CATHALA.

A mes Maitres de Saint-Lazare :

INTERNAT

MM. le Docteur Marcel SÉE;
le Docteur DUROEUX;
le Docteur BIZARD.

A mes Maitres dans les Laboratoires :

MM. le Professeur POUCHET;
le Professeur RICHAUD;
le Professeur agrégé TIFFENEAU;
le Docteur Henri BÉNARD.

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR GILBERT

Membre de l'Académie de Médecine.

Témoignage de ma respectueuse affection.

Travail du Laboratoire de M. le Professeur GILBERT
(*Clinique Médicale de l'Hôtel-Dieu*).

INTRODUCTION

L'étude de l'albumine sanguine a été poursuivie depuis de nombreuses années ; mais si les physiologistes et les chimistes ont étudié par des méthodes précises, pondérales, les variations de ces albumines, les cliniciens ne pouvant obtenir chez des malades des quantités de sang relativement considérables se sont vus obligés de recourir à des méthodes exigeant des quantités moindres de sang et des manipulations plus simples ; c'est pourquoi, l'emploi de la méthode réfractométrique a servi pour de nombreux travaux.

Cette méthode optique ne permet de s'enquérir que de la quantité totale d'albumine ; elle ne fournit aucune connaissance de la quantité respective des albumines entre elles. C'est pourquoi, nous avons cru intéressant de reprendre les quelques travaux utilisant la méthode pondérale et nous nous sommes efforcés d'en tirer une technique simple et suffisamment précise permettant d'étudier le rapport $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine.}}$.

Nous rappellerons au cours de ce travail les résultats qu'ont observés les différents auteurs dans les domaines

contigus de la physiologie et de la pathologie ; nous y joindrons nos propres recherches.

Nos expériences ont été poursuivies sous l'inspiration de M. le Docteur H. Bénard, chef de laboratoire à la Clinique médicale de l'Hôtel-Dieu.

Le Docteur Bénard a toujours été pour nous un conseiller et un guide précieux et nous sommes heureux aujourd'hui de pouvoir lui témoigner notre profonde gratitude et notre affection.

Nous tenons à remercier également son collaborateur le Dr A. Laborde dont les travaux sur le dosage des albumines par méthode optique nous ont été, à diverses reprises, de la plus grande utilité.

CHAPITRE PREMIER

LES ALBUMINES DU SÉRUM SANGUIN

La globuline et la sérine constituent la presque totalité des protéines du sérum sanguin. Le sérum, en effet, ne contient plus de fibrinogène qui est resté à l'état de fibrine dans le caillot ; quant aux nucléoprotéides (Pekelharing), fibrino-globuline et séro-mucoïde que l'on peut rencontrer, elles ne figurent qu'en proportions mal définies.

Dans le sérum sanguin, albumine et globuline présentent les caractères généraux que leur ont reconnus les chimistes et que nous résumons ici :

	Sérine	Globuline
Eau pure.	Soluble.	Insoluble.
Solutions salines diluées . .	Soluble.	Soluble.
Dialyse ou dilution	Ne précipite pas.	Précipite au moins en partie.
SO^4 Mg à saturation. . . .	Ne précipite pas.	Précipite.
$SO^4 (NH^4)^2$ à saturation . .	Précipite.	Précipite.
$SO^4 (NH^4)^2$ à 1/2 saturation.	Ne précipite pas.	Précipite.
CO^2	Ne précipite pas.	Précipite en partie (euglobuline).
Chaleur	Se trouble vers 70°. Se prend en masse vers 84°.	Se trouble vers 60°. Se prend en masse vers 75°.
Pouvoir rotatoire	$\alpha D = -56°$.	$\alpha D = -47°$.

A la base de l'étude de ces albumines, une question capitale se pose :

Y a-t-il une différence fondamentale entre sérine et globuline ?

Les derniers caractères indiqués peuvent varier selon les conditions de l'expérience ; il ne faut pas leur donner une signification qu'ils ne possèdent pas.

Différents auteurs ont signalé des faits intéressants. Maximovitch (1) décrit dans le sérum du cheval une globuline paraissant fort peu différente de la sérum-albumine.

Moll (2) décrit la transformation artificielle par le chauffage de la sérum-albumine en globuline.

Dans quelques expériences, nous avons essayé avec le Dr H. Biancani d'étudier l'influence des rayons X et de la chaleur sur les proportions relatives des protéines d'un même sérum.

Nous pouvons dire que toutes ces expériences ont été jugées par nous peu démonstratives et ne permettent pas de conclure.

	Avant l'expérience		Après irradiation de 10 u. h.	
	Album. totale.	Sérine.	Album. totale.	Sérine.
Sérum Grall (1re portion).	94	63,25	94	62,30
— (2e portion)..	94	63	94	62,50

	Avant le chauffage		Après chauffage 3 heures a 56°	
Sérum varié.	82	56,2	82	56
Sérum Grall.	94	63	94	62,35

Du reste, dans de telles expériences, faudrait-il tenir compte du P_H du sérum (3).

(1) Maximovitch. *Thèse Kazan*, 1904.
(2) Moll. *Beiträge z. chem. Physiol. und Pathol.*, 1903, p. 563.
(3) On vient de signaler dernièrement des modifications intéressantes du Ph sous l'influence des irradiations ultra-violettes.

D'autre part, pour beaucoup d'auteurs, ce qu'on appelle albumine et globuline vise plutôt deux familles de substances que l'on a essayé de distinguer les unes des autres et entre lesquelles il existerait des formes de passage.

Pour Arthus, il pourrait y avoir 3 sérum-albumines α, β, γ, caractérisées chacune par leur température différente de coagulation. Les sérum-globulines pourraient être distinguées en *euglobulines* et *pseudo-globulines* pour une raison analogue (Patein) (1).

Barbié (2) résume bien la complexité de la classification des globulines et l'indécision qui règne encore.

Panum appelle sérum-caséine une globuline qu'il précipite par l'acide acétique dans une solution de sérum étendu d'eau.

Cette même sérum-caséine, Schmidt et Lehmann la font rentrer dans le groupe des globulines de Berzélius et la désignent sous le nom de substance fibrino-plastique.

Kühne et Eichwald précipitent des albumines particulières dont ils font des alcali-albumines et que Hammarsten range dans le groupe des globulines.

Hammarsten appelle globuline du sérum le précipité obtenu par le sulfate de magnésie à saturation à 30 degrés.

Hofmeister et Kunde obtiennent la globuline seule par addition au sérum de son volume de solution saturée de sulfate d'ammoniaque.

Pick, Fuld et Spiro fractionnent les globulines du sérum par addition de doses croissantes de sulfate d'ammoniaque et arrivent à isoler :

1° Une fibrino-globuline,

2° Une pseudo-globuline,

3° Une euglobuline qui se diviserait elle-même en variétés soluble et insoluble dans l'eau.

Freund et Joachim admettent une composition plus complexe encore....

Une autre question peut également se poser : les différentes albumines sont-elles simplement mélangées

(1) Patein. Action de la chaleur sur le sérum sanguin, *Congrès de Rome*, 1906.

(2) Barbié. *Thèse Paris*, 1908-1909.

dans le sérum, ou sont-elles liées entre elles par des phénomènes d'absorption ou de combinaison?

D'après quelques recherches de Robertson et de A. Laborde (1), tout semble indiquer que les propriétés optiques des albumines totales d'un sérum seraient la somme des propriétés optiques des albumines constituantes. Tout se passe donc, à ce point de vue particulier, comme s'il s'agissait d'un mélange et non d'une combinaison.

Sans insister sur cette discussion, nous ne pouvons méconnaître que ces considérations ont un grand intérêt au point de vue physico-chimique et théorique, mais les substances ainsi séparées conservent leurs caractères avec une netteté suffisante et il semble que le rapport $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$ ou quotient albumineux du sérum puisse être étudié à un point de vue pratique, en première approximation.

Déjà Barbié, suivant les idées de Patein, pour simplifier la question, ne distingue plus que 3 groupes :

1° Une globuline précipitable par l'acide acétique à froid ou acéto-globuline ;

2° La sérum-globuline non précipitable par l'acide acétique à froid ou globuline proprement dite ;

3° La sérum-albumine.

Il ne semble pas que cette division des globulines en deux groupes ait donné des résultats particulièrement intéressants du point de vue pratique aux auteurs qui

(1) A. Gilbert, H. Bénard et A Laborde, *Soc. Biologie*, 30 juin 1923, p. 311. — A. Laborde. *Thèse Paris*, 1923, p. 54 et 66.

l'ont utilisée; c'est pourquoi simplement et objectivement :

Nous appellerons albumine totale du sérum, l'ensemble des matières albuminoïdes coagulables par la chaleur en présence de l'acide acétique et d'un excès de sel neutre (1).

Nous appellerons globuline, le corps qui précipite lorsqu'on sature le sérum avec du sulfate de magnésie (Hammarsten) ou qu'on dilue ce sérum avec un égal volume d'une solution saturée de sulfate d'ammoniaque (Hofmeister et Kunde).

Par sérine, nous entendrons le corps albumineux restant dans le sérum quand on a précipité la globuline, cette sérine pouvant être à son tour précipitée ou coagulée.

(1) Javal. Albumino-diagnostic des épanchements pleuraux et péritonéaux, *J. de Physiol. et Pathol. générale*, mars 1914.

CHAPITRE II

LE DOSAGE DES ALBUMINES SÉRIQUES

Le dosage des albumines et des globulines nécessite la séparation de ces 2 substances :

Nous ne décrirons pas ici la méthode employée par Vammer qui, par l'étude combinée de l'indice réfractométrique et de la viscosité, se rend compte de la valeur du quotient albumineux du sérum. Nous n'avons pas l'expérience personnelle de cette technique dont la valeur, du reste, a été récemment contestée par Fritz Rohrer (1).

Nous n'avons pas employé non plus la technique de Robertson (2).

La séparation de sérine et globuline se fait de façon générale, selon les caractères indiqués plus haut des propriétés de ces substances.

On peut ou bien doser et les globulines et les sérines ou bien faire un dosage des albumines totales, doser ensuite soit la sérine, soit la globuline et en déduire l'autre par différence.

Cette dernière méthode est en général utilisée ; la précipitation de la globuline étant obtenue le plus souvent par le sulfate de magnésie à saturation ou le sulfate d'ammoniaque à demi-saturation.

(1) Fritz Rohrer. *Schweizerische Mediz. Woch.*, n° 32, 1922.

(2) Robertson. A microrefractometric method of determining the percentage of globulin and albumin in very small quantities of blood serum, *J. Biol. Chemistry*, 1915, XXII, p. 233.

Nous ne voulons pas exposer dans le détail toutes les techniques employées; on les trouvera dans les traités de chimie biologique ou dans les articles originaux.

Nous croyons devoir cependant citer ici deux méthodes récentes basées sur la précipitation des albumines par l'acétone et qui ont donné aux mains de Bierry et Moquet (1), Bierry et Vivario (2), d'une part, Piettre et Vila (3), de l'autre, des résultats très précis avec des albumines séparées à l'état de grande pureté.

Nous résumons ici la technique de Piettre et Vila qui comporte deux temps principaux :

Précipitation des albumines totales par l'acétone;

Redissolution de la sérine par l'eau distillée.

Voici comment ces 2 auteurs opèrent (ils utilisent pour la mise au point le sérum de cheval).

1° Neutralisation par HCl $\frac{N}{I}$ (3 cmc., 4 p. 100 centimètres cubes de sérum).

2° Déminéralisation en milieu hydro-acétonique. Mélange de 1 volume de sérum avec 2 volumes d'acétone pure.

Après filtration sur entonnoir de porcelaine, la masse des protéïques est malaxée avec 1 volume d'acétone, puis essorée deux fois et lavée à l'éther.

Le gâteau des albumines est alors déposé délicatement dans une capsule, recouvert d'eau distillée O partie 7 pour 1 partie de sérum et laissé en contact plusieurs heures.

L'albumine se gonfle, devient translucide; il s'établit des courants entre l'eau et les fragments solides, qui se craquellent.

Quand les échanges ne se produisent plus, décantation de ce premier liquide, on le remplace délicatement deux ou trois fois, puis on broie les parties solides que l'on lave par centrifugation dans de l'eau saturée de CO^2.

On a ainsi des protéïnes insolubles exemptes d'albumine. Les eaux

(1) Bierry et Moquet. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 1922, t. LXXXVII, p. 329.

(2) Bierry et Vivario. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 1923, t. LXXXIX, p. 13.

(3) Piettre et Vila. *Ac. des Sciences*, 14 juin 1920.

de lavage renfermant la sérine sont réunies, saturées de CO^2 et filtrées. Par addition d'acétone en volume égal à la liqueur, on obtient l'isolement de cette substance.

Cette méthode a deux avantages mis en évidence par les deux auteurs :

1° Une grande exactitude est possible, montrée par des résultats sensiblement identiques obtenus à partir d'un même sérum.

2° La possibilité de garder disponibles pour d'autres études l'ensemble des substances contenues dans le sérum.

Cette technique constitue, au point de vue chimique, un perfectionnement sur les méthodes antérieurement décrites, mais elle nécessite une assez grande quantité de sérum; elle est d'une application minutieuse et longue.

Dans les recherches de première approximation que nous avons poursuivies, nous avons eu recours à la méthode au sulfate d'ammoniaque qui est d'une application très simple et donne des résultats suffisamment précis.

Voici la méthode employée. Elle comporte 2 temps :

1° Dosage des albumines totales.

2° Dosage de la sérine séparée par le sulfate d'ammoniaque à demi-saturation.

I. — **Dosage des albumines totales.**

Nous avons eu recours soit à la méthode indirecte réfractométrique, soit à la méthode pondérale, après coagulation par la chaleur. Dans la plupart des expé-

riences, nous avons pu employer les deux méthodes et trouver une concordance satisfaisante.

A. — Dosage réfractométrique.

Nous avons employé le réfractomètre d'Abbé. Depuis les travaux de Reiss (1), on sait que les variations de l'indice réfractométrique d'un sérum sont dues aux variations des albuminoïdes. Les autres substances, telles que les sels, ne le font varier que d'une façon insignifiante. La teneur en urée, seule implique quelques corrections. Toutefois (Thèse Vaucher) (2), la présence d'un gramme d'urée par litre de sérum n'augmentant l'indice réfractométrique que d'une quantité correspondant à 0 gr. 60 d'albumine, il est évident que dans la plupart des cas (sauf, bien entendu, chez les rénaux et cardio-rénaux), la correction est pratiquement négligeable.

B. — Dosage pondéral.

I. Quantité de sérum : 2 centimètres cubes, très exactement mesurés avec une pipette à 2 traits sont placés dans une fiole d'Erlenmeyer et dilués.

Cette dilution est indispensable (Hammarsten), étant donnée la petite quantité de sérum humain sur laquelle on opère.

II. Nous ajoutons dans la fiole :

(1) Reiss. *Thèse Strasbourg*, 1902 et Eine neue Methode der quantitativen Eiweissbestimmung, *Arch. für exper. Path. und Pharmak.*, 1903, p. 18.
(2) Vaucher. L'hydrémie des brightiques et des cardiaques œdémateux, *Thèse Paris*, 1911.

1° Solution NaCl à 15 p. 100 : 15 centimètres cubes environ;

2° Eau distillée : 30 centimètres cubes;

La teneur optima de la liqueur totale en NaCl devant être de 5 p. 100 environ.

(Nous n'avons pas employé de phosphate de potasse, ni d'acétate de soude).

3° IV ou V gouttes d'acide acétique cristallisable. Le liquide ne tarde pas à se troubler.

On porte au bain-marie.

Une des difficultés dans le dosage pondéral des albumines est l'adhérence des particules albumineuses aux parois de la fiole.

Pour l'éviter, en grande partie, voici comment nous sommes arrivés à procéder :

Placer la fiole sur le bain-marie alors que celui-ci est encore froid ou seulement tiède.

Sans agiter à proprement parler la fiole, ce qui aurait pour effet de provoquer de la mousse et le dépôt de gouttelettes albumineuses sur les parois au-dessus du niveau de la masse totale, tourner cette fiole, de façon à remuer légèrement le liquide.

Bientôt la coagulation se fait, le liquide trouble s'éclaircit et l'albumine se ramasse en flocons; on peut alors de moins en moins fréquemment tourner la fiole.

Au bout d'un quart d'heure, après la coagulation complète, on ajoute au liquide 2 centimètres cubes de la solution commerciale d'aldéhyde formique à 40 p. 100, on attend 2 minutes et on filtre à chaud sur un filtre taré (1) (*papier Durieux, filtration rapide, étiquette rouge*).

(1) Barbié dans sa thèse insiste sur l'utilité du formol qui précipite les corps albumineux complètement et très rapidement à l'ébullition; les liquides filtrés ne précipitent plus même avec les réactifs les plus sensibles, les précipités d'albumine sont constamment de même valeur pour une même solution.

La filtration se fait toujours sans difficultés en 10 à 15 minutes environ.

On s'assure que le filtrat ne contient pas d'albumine (*réactif de Tanret*).

A l'eau distillée chaude, on lave plusieurs fois la fiole de façon à entraîner toutes les particules albumineuses coagulées qui auraient pu adhérer au fond ou sur les parois du verre.

A l'eau distillée, on lave le filtre, tâchant de ramasser avec le jet de la pipette, l'albumine vers le fond conique du filtre.

On continue jusqu'à ce que l'eau filtrée ne contienne plus de traces de sels (*pas de trouble avec une solution de nitrate d'argent*).

Sur le filtre suffisamment égoutté, on verse une dizaine de centimètres cubes d'alcool à 95 degrés, puis une même quantité d'éther sulfurique.

Alcool et éther débarrassent l'albumine des graisses, lécithines, cholestérine.

Le filtre ainsi lavé et sec est placé à l'étuve à 110 degrés, pendant 24 heures environ.

Nous nous sommes trouvés bien, sitôt effectué le lavage à l'éther, de placer une demi-heure ou une heure le filtre à l'étuve à 37 degrés avant de le porter à l'étuve à 110 degrés.

Sorti de l'étuve à 110 degrés, le filtre est placé dans un dessiccateur (présence de chlorure de calcium), puis pesé.

Nous disposions dans le laboratoire d'une balance curie à amortisseur à air et à lecture directe qui nous

permettait une manipulation rapide, nous mettant à l'abri des causes d'erreur tenant à l'hygroscopie considérable des albumines desséchées.

II. — Séparation de la sérine et de la globuline et dosage de la sérine isolée.

Nous avons employé le sulfate d'ammoniaque à demi-saturation (méthode de Hofmeister et Kunde).

Nous servant de sérum humain, nous nous sommes trouvés limités par la quantité de sérum à employer.

Le mélange d'un volume de sérum et d'un volume égal de sulfate d'ammoniaque ne pouvait nous convenir, l'opération sur de petites quantités de liquides entraînant des déperditions et des causes d'erreur nombreuses.

Nous nous sommes ralliés après quelques essais comparatifs à la précipitation de 1 volume de sérum par 9 volumes d'une solution convenablement titrée de sulfate d'ammoniaque (300 grammes par litre ; $d = 1.150$).

Le sulfate d'ammoniaque à une concentration de 250 grammes par litre précipite complètement toutes les globulines; à 336 grammes, il commence à précipiter les albumines, les précipitant totalement à 472 grammes par litre (1).

1 volume de sérum (le plus généralement 5 centimètres cubes mesurés très exactement à la pipette à 2 traits) est dilué avec 9 volumes de la solution indiquée : la teneur en sulfate d'ammoniaque des 10 volumes

(1) Armand Gautier, *Leçons de chimie physiologique*, p. 97.

obtenus est de 270 grammes par litre, chiffre qui élimine toute possibilité de précipitation de sérum-albumine.

Le mélange, soigneusement agité dans une éprouvette graduée dûment bouchée, est placé à l'étuve à 37 degrés pour décantation spontanée.

La décantation spontanée nous a paru le moyen le plus pratique pour obtenir une séparation des deux albuminoïdes, la centrifugation même poussée à de très grandes vitesses ne nous a pas donné de bons résultats.

Un séjour à l'étuve à 37 degrés améliore très nettement les conditions de sédimentation.

Le plus souvent, en 24 heures, la décantation est totale; le précipité de globuline blanchâtre est surmonté d'un liquide clair, ne contenant comme albuminoïde que de la sérum-albumine.

Ce liquide surnageant est soutiré très soigneusement avec une pipette très effilée, en évitant toute agitation susceptible de réémulsionner la globuline.

20 centimètres cubes de ce liquide sont mis dans une fiole d'Erlenmeyer, dilués à 50 centimètres cubes et acidifiés par IV gouttes d'acide acétique cristallisable.

La solution ainsi obtenue contient encore environ 100 grammes de sulfate de magnésie par litre; il y a donc excès de sel neutre; il semble néanmoins que dans le liquide de dilution l'adjonction d'une petite quantité de NaCl à 15 p. 100 facilite la coagulation.

Cette coagulation se fait, selon la technique indiquée précédemment :

Bain-marie; 1/4 d'heure après coagulation totale ajouter :

Formaldéhyde : 2 centimètres cubes.

Retirer au bout de 2 minutes et porter sur le filtre.

Il est à noter que la filtration est ici plus lente que dans le cas d'albumines totales. Il semble que, dans le milieu au sulfate d'ammoniaque, la sérine coagule en flocons menus qui colmatent le filtre assez rapidement. Il faut donc compter une heure de filtration, sinon plus.

Après filtration, la technique est encore la même que celle précédemment décrite :

Lavages à l'eau distillée chaude, lavage à l'alcool fort, lavage à l'éther, dessiccation à l'étuve à 110 degrés et pesée.

Dans quelques expériences de contrôle nous avons vérifié par la méthode au sulfate de magnésie à saturation les résultats que nous avions obtenus.

Etant donnée la petite quantité de sérum employée, la saturation directe par des cristaux de sulfate de magnésie nous a semblé peu pratique. Voici comment nous avons procédé :

5 centimètres cubes de sérum sont placés dans une éprouvette de 50 centimètres cubes ; on ajoute des cristaux de sulfate de magnésie en quantité suffisante pour saturer et on complète à 50 centimètres cubes par une solution saturée de sulfate de magnésie.

Le mélange est soigneusement agité et mis au repos ; mais même au bout de 24 heures, il n'y a pas trace de sédimentation malgré le séjour à l'étuve.

Heureusement, la filtration est, ici, des plus faciles. Le liquide filtrant contient seulement de la sérine ainsi qu'il est facile de le vérifier.

Coagulation, filtration du coagulum, dessiccation et pesée suivant la même méthode.

Voici quelques concordances obtenues :

		Sérum I	Sérum II Cheval.	Sérum III
Sérine par litre.	$SO^4(NH^4)^2$	35,7	1re portion : 26 2e portion : 25,80	58,1
	SO^4Mg.	35,2	1re portion : 25,75 2e portion : 25,60	58,5

Les deux méthodes sont donc comparables.

Nous sommes néanmoins resté fidèle à la méthode au sulfate d'ammoniaque à demi-saturation.

Dans plusieurs cas, nous avons vérifié si la méthode consistant à déterminer la globuline par différence était légitime :

Le précipité de globuline rassemblé au fond de l'éprouvette est lavé cinq fois par décantation au moyen d'une solution de sulfate d'ammoniaque de densité 1.150.

Il est facile de s'assurer que le dernier liquide de lavage ne renferme plus trace de sérine au moyen de l'acide trichloracétique.

Après une dernière décantation, le sulfate d'ammoniaque est alors remplacé par de l'eau distillée jusqu'au volume 50. La dissolution de la globuline en présence de sel neutre est très rapide et totale.

50 centimètres cubes contiennent donc la globuline des 5 centimètres cubes du sérum primitif.

On prend 20 centimètres cubes de cette dilution que l'on coagule, filtre, dessèche et pèse comme il est indiqué précédemment.

	Sérum Cheval.	Sérum H	Sérum E
Globuline par différence. . . .	36	22	30,6
Globuline par pesée directe . .	35,15	21,4	30
Rapport $\frac{G}{S}$ par pesée de sérine.	1,38	0,48	0,65
Rapport $\frac{G}{S}$ — de globuline.	1,32	0,47	0,63
Albumines totales.	62	66,6	77,4
Sérine pesée directe.	26	44,6	46,8

On voit facilement que le fait de calculer la globuline par différence, n'amène pour l'étude du rapport $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$ que des différences légères. Nous pouvons donc conclure que la méthode indiquée plus haut, à savoir :

1° Coagulation de l'albumine totale par la chaleur.

2° Séparation de la globuline de la sérine, par le sulfate d'ammoniaque à demi-saturation, coagulation, pesée de la sérine et calcul de la globuline par différence, nous permet d'étudier, avec une précision suffisante, les variations du rapport $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$.

Nous admettrons que ce rapport aura subi une variation qui ne pourra pas être mise sur le compte des erreurs d'expériences quand il manifestera des différences supérieures à 10 p. 100.

CHAPITRE III

LE RAPPORT $\frac{\text{GLOBULINE}}{\text{SÉRINE}}$ ET SES VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES

Les proportions respectives des deux albumines du sérum sont extrêmement variables et les nombreux chiffres, fournis par les différents auteurs, accusent des écarts considérables.

I. — Dans les différentes espèces animales.

Le tableau suivant permet de s'en rendre compte :

	Homme	Bœuf	Cheval	Lapin	Rat blanc
	(Hammarsten).	(Hammarsten).	(Hammarsten).	(Hammarsten).	(Robertson).
Albumines totales.	76,2	75	72,6	62,2	65
Globuline.	31	41,7	45,8	17,9	17
Sérine	45,2	33,3	26,8	44,3	48
$\frac{G}{S} =$	0,68	1,25	1,70	0,40	0.35

Nous voyons donc que si l'albuminose totale du sérum ne varie que d'une façon assez faible 76-75 à

62-65 le rapport $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$, lui, est sujet à des différences considérables 1,70 à 0,35.

Les différences peuvent être encore plus prononcées. Les analyses de Halliburton donnent pour le sang de grenouille :

Albumines totales. .	25,40	le rapport $\frac{G}{S} = 6,06$
Globuline	21,80	
Sérine	3,60	

D'autre part, Nolf (1), dans l'étude d'invertébrés marins, trouve que la solution concentrée de sulfate de magnésie entraîne la presque totalité des albuminoïdes chez les Céphalopodes, alors que chez certains Arthropodes la plus grande partie reste dissoute dans le plasma.

De telles différences n'admettent encore, à l'heure actuelle, aucune explication plausible.

II. — Dans une même espèce animale.

On peut observer des différences notables. C'est surtout chez le chien que les chiffres mettent ce fait en évidence :

	Chien				
	Hammarsten).	Hurwitz et Whipple).	(Cervello).	(Cervello).	(Cervello).
Albumines totales .	66,4	61,	48,8	45,5	44,75
Globuline.	45,6	15	17	11,37	22,4
Sérine	20,8	46	31,8	34,13	21,91
$\frac{G}{S}$	2,09	0,32	0,54	0,33	1,04

(1) Nolf. *Archives internationales de Physiologie*, juillet 1906, p. 98.

Sans doute, fera-t-on remarquer qu'il existe des différences considérables de taille et de poids entre les différentes races de chiens. Mais si l'on consulte les chiffres fournis par Inagaki (1) sur le dosage du sang de 13 lapins normaux, on trouve le rapport $\frac{G}{S}$ variable : minimum = 0,27; maximum = 0,56; le plus grand nombre ayant une valeur voisine de 0,42.

Là encore, variation du simple au double.

Chez le cheval, nous rapprocherons des chiffres fournis par Hammarsten (voir plus haut) avec un rapport $\frac{G}{S} = 1{,}70$, de quelques chiffres obtenus par nous-même et qui indiquent tous un quotient albumineux notablement inférieur.

	Cheval	Cheval	Cheval	Cheval
Albumines totales	62	79,6	77,3	73,5
Globuline	36	44	43,8	40,9
Sérine.	26	35,6	33,5	32,6
$\frac{G}{S}$ = ...	1,38	1,24	1,31	1,25

Chiffres comparables à ceux trouvés par Piettre et Vila (2); pour ces auteurs la valeur moyenne de $\frac{G}{S} = 1{,}29$.

Nous voyons donc que le quotient albumineux $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$ est variable selon les espèces, variable selon les individus.

Chez un sujet donné, quelles sont les influences qui peuvent le faire varier?

(1) Inagaki. *Zeitschrift für Biologie*, 1907.
(2) Piettre et Vila, *C. R. Ac. des Sciences*, 14 juin 1920; — Vila, *C. R. Ac. des Sciences*, 23 octobre 1922.

III. — Influence de l'âge.

De nombreuses recherches ont eu lieu sur les animaux; malheureusement, la plupart ne font mention que de la quantité d'albumines totales.

Zangemeister et Meissl (1), dans leurs recherches comparatives sur le sang maternel et fœtal, notent que le sérum de la mère contient plus d'albumine, que le volume du plasma est plus considérable, qu'il n'existe pas de différence du point de congélation, ce qui voudrait indiquer que le sang de la mère et celui du fœtus sont, dans des conditions identiques au point de vue des phénomènes osmotiques.

Reiss (2), avec le réfractomètre, montre que, chez le nourrisson, la teneur en albumine du sérum ne dépasse pas 60 grammes jusque vers le 6e ou 10e mois. Puis la concentration augmente et, à un an, on obtient les mêmes chiffres que chez l'adulte.

Orcutt et Howe (3) ont étudié le sang du veau et constatent que, chez cet animal, il n'y a pas de globuline à la naissance; elle n'apparaît que quand l'animal a commencé à téter.

Pour Howe (4), dans les six premières semaines, l'alimentation est capable d'influencer notablement la teneur en protéines du sérum, et ce n'est que vers 18 ou

(1) Zangemeister et Meissl. *Münch. Mediz. Wochenschrift*, 21 avril 1903.
(2) Reiss. *Thèse Strasbourg*, 1902.
(3) Orcutt et Howe. *J. exp. med.*, XXXVI, septembre 1922, p. 291.
(4) Howe. *J. of Biol. Chemistry*, août 1922, p. 479.

22 mois que la teneur en globuline du sérum devient définitive et caractéristique de l'individu.

Dans un travail plus ancien, C.-E. Wells (1), dosant les albumines du sang de lapins âgés de 21 à 140 jours, trouve une progression du taux des albumines totales, un rapport $\frac{G}{S}$ variable selon les individus, mais non en rapport avec l'âge.

Les lapins adultes âgés d'un an, semblent avoir une albuminose totale plus faible que les lapins adolescents; le quotient albumineux n'est pas influencé.

On voit donc que les résultats des recherches signalées sont donc loin d'avoir élucidé tout le problème posé.

Il n'est pas venu à notre connaissance d'autres travaux sur un tel sujet.

IV. — **Alimentation, jeûne.**

Nous venons de voir, que pour certains auteurs, l'alimentation était susceptible de faire varier la composition du sérum sanguin dans le tout jeune âge; chez les sujets adultes, le jeûne complet, l'inanition, sont susceptibles de provoquer des perturbations plus ou moins profondes dans les proportions respectives des deux albumines.

Lewinski (2) étudie l'augmentation de la globuline dans le sérum du chien par suite du jeûne prolongé.

(1) C.-E. Wells. *J. of Biol. Chemistry*, juillet 1913.
(2) Lewinski. *Arch. für d. ges. Physiol.*, 1903, p. 611.

Brailsford-Robertson (1) voit tantôt le rapport augmenter, tantôt diminuer.

Cervello (2) expérimentant chez le chien, distingue deux périodes dans l'inanition.

Une première période où le taux des albumines totales augmente (déshydratation) bien que la sérum-albumine diminue un peu, il s'ensuit une augmentation notable du quotient $\frac{G}{S}$.

Une deuxième période d'inanition plus avancée; le taux des albumines totales diminue ainsi que celui de la sérum-globuline: il s'ensuit que le rapport $\frac{G}{S}$ diminue à son tour.

Vers le 10e jour de jeûne, le quotient peut redevenir ainsi égal au quotient normal.

Le facteur temps a donc ici une grosse importance.

V. — **Saignée.**

A côté de ces travaux, nous devons placer des expériences faites pour étudier les modifications apportées par la saignée, — expériences qui presque toutes ont été faites sur des animaux à l'état de jeûne.

Inagaki (3) opérant sur le lapin par **saignée non compensée par injection de sérum** constate les variations suivantes :

Diminution du taux des albumines totales due à la dilution du plasma restant.

(1) Brailsford Robertson. *J. of biol. Chemistry*, XIII, p. 325, 1912.
(2) Cervello. *Arch. di Farmacologia e Terapeutica*, XIV, p. 391, 1908.
(3) Inagaki. *Loc. cit.*

Modifications du rapport globuline à sérine.

a) Première période (5 heures après la saignée), la sérum-albumine diminue moins que la globuline : $\frac{G}{S}$ diminue.

b) 1 ou 2 jours après la saignée, la sérum-albumine continue à diminuer, mais la globuline tend à augmenter : $\frac{G}{S}$ augmente.

Morawitz (1) opérant sur des chiens à jeun et remplaçant le sang soustrait par du liquide de Locke tenant en suspension des globules de chien lavés, parvient à abaisser la teneur du sérum à 20 p. 1000 environ; le résultat de ses expériences est le suivant :

L'augmentation du taux des albumines totales est rapide; en 20 heures, les $\frac{4}{5}$ de la richesse primitive ou protéiques du sérum ont été récupérés.

La sérum-albumine augmente rapidement d'abord comme si, suggère l'auteur, il y avait une réserve disponible dans les tissus.

La globuline voit son augmentation plus tardive et plus lente au début, mais atteint finalement son taux normal plus tôt que l'albumine.

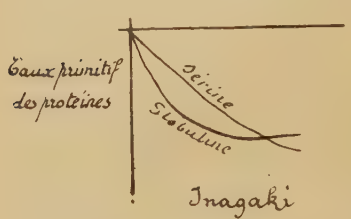
L'auteur se demande ici s'il n'y aurait pas néo-formation.

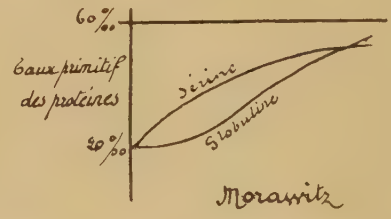
Ces deux séries de travaux peuvent être comparées : il y a superposition nette; mais dans les expériences de Inagaki, la dilution du sérum fait que l'augmentation en fait de la sérine se traduit par une diminution apparente,

(1) Morawitz. *Beiträge für chem. Physiol. und Pathol.*, 1905, VII, p. 161.

diminution qui est moins rapide au début que celle de la globuline dont l'augmentation réelle est plus longue à être appréciable.

Nous avons trouvé bon de comparer ces expériences au moyen des 2 figures suivantes :





Cervello (1), par des expériences très analogues sur la tortue marine et sur le chien, retrouve bien cette récupération rapide d'albuminoïdes par le sérum, mais il ne peut tirer aucune conclusion sur la variation cyclique du rapport. Pour lui-même, tantôt la globuline, tantôt la sérine est prédominante selon l'expérience et par raisonnement que nous ne répèterons pas, il est amené à conclure que sérum-albumine et sérum-globuline ont une fonction anabolique équivalente.

Telles sont les principales recherches effectuées par les physiologistes qui ont étudié le rapport $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$.

Nous devons encore indiquer les expériences de H. de Waele (2) sur le choc anaphylactique. Pour cet auteur, moment du choc, il y a dans le plasma, précipitation de

(1) Cervello. *Arch. italiennes de Biologie*, LII, 1909, p. 17.
(2) H. de Waele. *Réunion belge Biol.* in *C. R. Soc. Biol.*, n° 24, 1921.

fibrine et diminution de la globuline, la proportion d'albumine augmente au contraire (il s'ensuit un abaissement du quotient albumineux).

Après le choc, le pourcentage de fibrine et de globuline augmente et celui de l'albumine s'abaisse.

CHAPITRE IV

LE RAPPORT $\frac{\text{GLOBULINE}}{\text{SÉRINE}}$ DANS QUELQUES ÉTATS PATHOLOGIQUES

Les modifications possibles du quotient albumineux du sérum ont été recherchées dans nombre de maladies.

I. — Nous citerons ici les études de Barbié sur le sérum ou le plasma.

Au cours du mal de Bright, en réunissant les chiffres que cet auteur produit pour l'acéto-globuline et la globuline en une somme de globulines totales, nous pouvons calculer qu'il trouve une valeur de $\frac{G}{S}$ allant de 0,45 à 0,66.

Un cas d'urémie donne 0,74.

Une prise de sang faite à un malade très œdématié, quelques heures avant sa mort, a montré une perturbation considérable : 4 grammes de sérine pour 45 gr. 88 de globuline, soit un rapport égal à 11.

Chez des éclamptiques, variations entre 0,29 et 0,63.

Chez des femmes atteintes de vomissements incoercibles, variations entre 0,36 et 0,62.

Chez une femme atteinte d'accidents gravido-cardiaques, 0,57.

Chez 2 adénoïdiens, 0,47 et 0,44.

Chez un hémophile jeune, 0,22.

Chez un autre hémophile traité par injections de sérum antidiphtérique, 0,45 et 0,41.

Ces résultats, ainsi que l'indique l'auteur, s'ils permettent de souligner les différences que présentent les sérums pathologiques avec les sérums normaux ne permettent aucune autre conclusion.

II. — **Au cours des affections hépatiques.**

Dans un important travail, Filinski étudiant le rapport $\frac{G}{S}$ sur différents cachectiques, et en particulier sur des cancéreux, trouve des rapports normaux, sauf chez des cancéreux ayant des métastases hépatiques.

Amené par ces constatations à étudier les variations du quotient albumineux au cours des maladies du foie, il trouve ce quotient toujours au moins égal à l'unité et le plus souvent, la dépassant notablement.

Voici quelques-uns des chiffres qu'il fournit :

	Album. totales	Globuline	Sérine	$\frac{G}{S}$
Ictère catarrhal	76,3	45,2	31,1	1,45
Ictère grave consécutif à angiocholite	79,5	46,5	33,0	1,4

(1) Filinski. *Presse médicale*, n° 22, 1922.

	Album. totales	Globuline	Sérine	$\frac{G}{S}$
Foie cardiaque (foie muscade)	71,61	36,61	35	1,04
Cirrhose cardiaque	62	34,9	27,1	1,28
— hypertrophique .	84	52,2	31,8	1,63
— hypertrophique .	84,6	46,3	38,3	1,2
Foie amyloïde chez un phtisique	94,8	64,8	30,0	2,16
Foie amyloïde chez un phtisique	65,1	43,1	22,0	1,96
Pneumonie avec ictère léger	71,5	36	35,5	1,01
Fièvre récurrente avec ictère léger.	96,7	48,5	48,2	1,01

et il conclut :

1° L'altération du rapport de la globuline à la sérine dans le sérum du sang n'est une règle ni dans la cachexie, ni dans le cancer.

2° Ce rapport ne peut servir de symptôme diagnostique du cancer.

3° Il est très probable que l'augmentation du taux de la globuline dans le sérum du sang est causée par l'insuffisance hépatique.

Plus récemment encore, Filinski (1) insiste sur ce dernier point. Pour lui, l'augmentation du taux de la globuline est proportionnelle à la gravité de l'atteinte du foie.

Nous placerons ici sans les commenter, quelques résultats obtenus par nous dans le dosage du sérum de sujets atteints d'affections hépatiques.

(1) Filinski et Proszowski, *Archiwum Medycyny Wewnetrznej*, tome I, n° 1, 1923.

	Album. totales	Globuline	Sérine	$\frac{G}{S}$
Ictère lithiasique par rétention.	74,9	33,3	41,6	0,80
Ictère infectieux	66,6	22	44,6	0,49
Cirrhose hypertrophique .	83,7	48	35,7	1,34
Ictère au cours de l'arsénothérapie.	82,2	37	52,2	0,70

III. — **Dans le cancer.**

Dans une série de travaux des plus intéressants, M. Lœper et ses collaborateurs ont étudié les modifications sanguines au cours du développement des cancers.

En ce qui concerne notre point de vue particulier, M. Lœper a montré dans certains cancers l'accroissement paradoxal des protéines du sérum (1), l'hyperglobulinémie qu'il attribue à des processus de désintégration ou de sécrétion de la tumeur.

Pour le démontrer (2), par irradiations successives sur des tumeurs, il met en évidence une augmentation de l'albuminose du sérum des cancéreux traités et surtout une augmentation en valeur absolue de la globuline.

Nous avons vu plus haut que M. Filinski a donné une interprétation différente de l'élévation du rapport $\frac{G}{S}$ observé chez les cancéreux. Pour lui, cette élévation ne serait pas fonction du cancer et de la cachexie; elle

(1) M. Lœper, Forestier et Tonnet. L'albuminose paradoxale du sérum cancéreux. *C. R. Soc. Biol.*, 10 juillet 1920 et *Presse Médicale*, 27 avril 1921.
(2) M. Lœper, Debray et Tonnet. L'action de la radiothérapie sur le passage dans le sang des albumines des tumeurs. *C. R. Soc. Biol.*, 9 juillet 1921.

s'observerait exclusivement dans le cas de cancer avec localisation hépatique entraînant une insuffisance fonctionnelle du foie.

IV. — Infections et réactions d'immunité.

Quelques documents épars concernant diverses maladies infectieuses, telles que pneumonie, suppurations, tuberculose, montrent que les infections s'accompagnent habituellement d'une augmentation légère de la globuline. Nous avons trouvé nous-mêmes, pour valeur du quotient albumineux, les chiffres de 0,83 et 0,78, au cours d'un érythème polymorphe avec fièvre élevée.

Hurwitz et Whipple (1) pratiquent chez des chiens une obstruction intestinale, ou réalisent sur eux des péritonites ou encore des infections généralisées. Le rapport $\frac{G}{S}$ change par suite de l'augmentation des globulines.

Dans un cas d'obstruction intestinale, ils voient ainsi la globuline passer dans le sérum de 24 p. 100 à 55 p. 100, tandis que la sérine-albumine diminue d'autant. Le rapport $\frac{G}{S}$ monte ainsi de 0,31 à 1,22.

Moll (2), en 1903, signale l'augmentation des globulines dans le sang des animaux immunisés ; d'après lui, cette augmentation paraît être un des signes de la réaction de l'organisme envers les injections immunisantes.

Injectant à des chiens et des lapins diverses matières

(1) Hurwitz et Whipple. *J. of experim. Medicine*, Baltimore, XXV, n° 2, février 1917.

(2) Moll. *Beiträge zür chem. Physiol. und Pathol.*, IV, 1903, p. 578.

albuminoïdes, il recherche la réaction des précipitines; dès qu'elle se produit avec la matière albuminoïde, injectée, on constate l'augmentation des globulines sériques, et, seuls les sérums qui montrent l'augmentation de la globuline donnent la réaction.

Pour l'auteur, en outre, la majeure partie de la matière précipitée vient du sérum d'où la conclusion que les nouvelles globulines du sérum sont différentes des globulines primitives, puisque le sérum naturel ne précipite pas. D'autre part, l'auteur rappelant ses travaux sur le chauffage du sérum, conclut que les globulines apparues chez un animal immunisé sont encore différentes des globulines apparues par le chauffage, car le sérum chauffé ne peut donner la réaction des précipitines.

Nous avons recherché d'une façon simple cette augmentation de la globuline en nous servant de différents sérums thérapeutiques (sérums de cheval) fournis par l'Institut Pasteur.

Nous avons trouvé une valeur du quotient $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$ souvent très augmentée et pouvant atteindre 2,32.

Dans un travail récent, Piettre (1) revient sur cette question. Pour cet auteur, il y aurait au contraire dans les sérums thérapeutiques augmentation de la sérum-albumine.

Nous voyons donc que l'accord est loin d'être fait sur ce sujet et qu'il y aurait encore place pour de nombreuses recherches.

(1) Piettre. Recherches cliniques sur les sérums thérapeutiques. *Arch. Instit. Vital Brazil*, juillet 1923.

CHAPITRE V

LE RAPPORT $\frac{\text{GLOBULINE}}{\text{SÉRINE}}$ DANS LA SYPHILIS

C'est au cours de la syphilis que les modifications protéiques du sérum ont été les plus étudiées, dans l'espoir d'y trouver une interprétation de la réaction de Wassermann. Nous rapporterons ici, ainsi que l'a fait Ronchèse dans son ouvrage sur la réaction de Wassermann, le principal passage de la communication de Rubinstein et Mazot (1) :

Les altérations des globulines, d'une portée biologique générale, semblent constituer le propre des sérums à anticorps.

«... Tout comme le liquide céphalo-rachidien, le sérum des syphilitiques est enrichi en albumines, particulièrement en globulines; ces sérums donnent une réaction de Wassermann positive. Ce même enrichissement se rencontre, mais plus rarement, dans le cas de sérums non syphilitiques avec une réaction de Wassermann négative. La qualité des protéines paraît donc apporter un facteur nouveau.

Landsteiner et Müller en précipitant les globulines des sérums par l'acide carbonique, Gross et Volk, Bauer et Hirsch en dialysant les sérums constatent leur rôle important dans la réaction de Wassermann. Noguchi arrive aux mêmes conclusions.

Pour Friedmann, le pouvoir anticomplémentaire des globulines capables de fournir un Wassermann positif est annihilé par les albumines des sérums normaux. Dans la syphilis, les globulines sériques sont sous une forme telle qu'elles ne sont plus influencées par ces albumines.

(1) Rubinstein et Mazot. *Soc. Biol.*, 2 juin 1917.

Widal et ses élèves, Von Dungern, etc..., étudient la concentration en albumine des sérums syphilitiques en recherchant l'indice réfractométrique et la trouvent élevée par rapport aux sérums normaux: Sachs voit la cause finale de la disparition de l'alexine dans la réaction de Wassermann dans l'altération des colloïdes labiles (probablement des globulines) du sérum humain... »

Kapsenberg (1), après de longs et minutieux travaux sur les globulines isolées par dialyse, démontre que ce sont elles qui sont responsables de la réaction de Wassermann.

En résumé, la question posée était la suivante : Y a-t-il une modification quantitative ou qualitative des albumines dans les sérums qui donnent une réaction de Wassermann positive?

Bory, dans une première communication, pense à une modification quantitative, particulièrement de la globuline.

Dans une autre communication faite avec Guérithault (2), Bory n'ayant pas trouvé de différence appréciable dans la valeur des rapports des albumines entre elles, qu'il s'agisse de sérums syphilitiques ou non syphilitiques, modifie son opinion et pense que les sérums normaux possèdent une substance qui s'oppose à l'action de la globuline; elle est absente dans les sérums syphilitiques.

« Ce n'est pas une substance en plus qui caractérise les sérums syphilitiques, c'est une substance en moins ».

Ronchèse (3) publiant des dosages comparables en tire une autre conclusion. Il fait remarquer que si la

(1) Kapsenberg. *Annales de l'Institut Pasteur*, mai et octobre 1921.
(2) Bory et Guérithault. *Soc. médic. des Hôpitaux*, 31 janvier 1919.
(3) Ronchèse. La réaction de Wassermann pour le séro-diagnostic de la syphilis, Masson, éd. 1919.

substance en moins est la caractéristique du sérum syphilitique, on ne comprendrait pas « qu'un sérum positif puisse devenir négatif par le chauffage; il faudrait supposer que cette substance antagoniste prend naissance dans l'inactivation ».

Il lui paraît plus rationnel « de supposer que la syphilis exalte l'activité de la globuline en augmentant son degré de division, tandis que la chaleur la diminue, cela n'empêche pas de considérer l'action de la sérine comme antagoniste de celle de la globuline ».

Notre Internat de Saint-Lazare nous a permis de faire quelques recherches chez des syphilitiques avec ou sans réaction de Wassermann positive.

	W	Albumine totale	Globuline	Sérine	$\frac{G}{S}$
Sérum G... (plaques muqueuses)	+	91,9	42,3	49,6	0,85
S. M... (plaques muqueuses).	+	91,6	45,2	46,4	0,97
S. R... (plaques muqueuses).	+	88,15	43,15	45	0,96
S. O... (roséole). . . .	+	91,8	38,20	53,6	0,71
S. J... (roséole)	+	92,5	40,5	52	0,78
S. A... (chancre Σ). . .	—	87,3	29,90	57,4	0,52
S. B... (chancre Σ). . .	—	87,15	34,80	52,35	0,66

Ces quelques recherches montrent un rapport $\frac{G}{S}$ habituellement élevé chez les sujets à Wassermann positif.

Il est vrai que, dans les conditions particulières où nous nous étions placés, nous avons trouvé des rapports souvent élevés chez les hospitalisées, sans syphilis connue et en tout cas avec Wassermann négatif.

	W	Album. totale	Globuline	Sérine	$\frac{G}{S}$
Sérum C.	—	93,4	41,6	51,8	0,80
— N.	—	86,9	48	38,9	1,20
— P.	—	90	41,9	48,1	0,87

D'accord avec les auteurs que nous venons de mentionner, nous ne nous croyons donc pas autorisés à conclure à une élévation du rapport $\frac{G}{S}$ dans les sérums donnant une R.-W. positive.

Ni l'élévation du rapport, ni l'augmentation en valeur absolue de la quantité de globulines ne sont susceptibles d'expliquer le caractère positif de la réaction de Wassermann. Celle-ci paraît résulter d'une modification qualitative des propriétés physico-chimiques des protéines du sérum, et peut-être plus particulièrement des globulines, sans qu'on puisse du reste fournir et donner des précisions à cet égard (1).

Laissant de côté cette question des plus complexes, nous avons essayé de suivre chez un même sujet syphilitique l'évolution du rapport $\frac{G}{S}$ suivant l'âge de ses lésions et sous l'influence du traitement.

Avant d'entreprendre cette étude, une question fondamentale se posait. Le quotient albumineux chez un sujet sain, dans des conditions physiologiques identiques, a-t-il une valeur fixe ou une valeur sujette à variations?

Voici les chiffres concernant 3 individus sains et

(1) On a signalé dernièrement les modifications de la charge électrique des globulines dans des sérums syphilitiques à réaction de Wassermann positive (Kopaczewski).

placés, dans la mesure du possible, dans les mêmes conditions physiologiques (le sang a été pris le matin vers 10 heures, le sujet étant à jeun depuis la veille au soir) :

	Sérum Del..	Sérum Ch.	Sérum Ev.
Albumines totales. . .	82,55	78,55	81,8
Globuline.	27,85	26,9	31,7
Sérine	54,70	51,65	50,1
Rapport $\frac{G}{S}$	0,51	0,52	0,63

Ce qui, comparé avec les chiffres donnés par différents auteurs, permet de conclure que le rapport $\frac{G}{S}$ normal est compris entre 0,50 et 0,70.

Chez un de ces sujets, nous avons eu l'occasion d'effectuer à 15 jours d'intervalle, 2 déterminations du rapport $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$. Dans la 1re des déterminations, le sérum avait été pris le matin, dans la 2e, l'après-midi.

Bien que les proportions d'albumines totales se soient montrées légèrement différentes, le rapport $\frac{G}{S}$ était identique dans les 2 cas :

Sérum Ev.	1er Examen	2e Examen
Albumines totales.	81,8	77.4
Globuline.	31,7	30,6
Sérine	50,1	46,8
$\frac{G}{S}$	0,63	0,65

Chez nos syphilitiques, nous avons pratiqué au bout d'un mois environ, alors qu'elles avaient reçu une série complète d'injections intraveineuses d'arsénobenzol,

un nouvel examen du sérum : les lésions cutanéo-muqueuses ont totalement disparu, mais le Wassermann est resté positif.

Voici le nouveau tableau :

	W	Album. totale	Globuline	Sérine	$\frac{G}{S}$
Sérum G.	+	916	32,1	49,55	0,57
— M.	+	89,2	39,6	49,55	0,80
— R.	+	88,1	37,6	50,5	0,74
— O.	+	89,4	33,2	56,2	0,59
— J.	+	100,7	32,1	68,6	0,46

Dans les 5 cas, nous avons donc eu une diminution.

Sérum G. . . . . de 0,85 à 0,57
— M. . . . . de 0,97 à 0,80
— R. . . . . de 0,96 à 0,74
— O. . . . . de 0,71 à 0,59
— J. . . . . de 0,78 à 0,46

Sans doute, le nombre des malades sur lesquelles a porté ces recherches n'est pas considérable, mais il faut remarquer que, dans tous les cas, la modification s'est effectuée dans le même sens.

Cet abaissement du quotient albumineux du sérum n'est du reste pas dû aux modifications de vie et de régime des malades observées, car un nouvel examen du sérum N (cité plus haut, W — $\frac{G}{S}$ = 1,20) vingt-cinq jours plus tard nous a montré une valeur identique (= 1,18) du rapport $\frac{G}{S}$ alors que le chiffre des albumines totales était passé de 86,9 à 96,5.

Des recherches nouvelles que nous venons d'entre-

prendre sur le sérum de malades syphilitiques traités par des injections de bismuth nous permettront de connaître (nous l'espérons, du moins) quelle est, dans cette modification du rapport $\frac{G}{S}$, la part revenant à la maladie et celle qui peut revenir au médicament et à son mode d'administration.

CONCLUSIONS

1° La détermination du rapport $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$ peut se faire aisément sur une quantité de sérum ne dépassant pas 7 à 8 centimètres cubes, en faisant successivement un dosage des albumines totales et un dosage de la sérine séparée de la globuline par l'action du sulfate d'ammoniaque à demi-saturation.

Si l'on remplace le dosage pondéral des albumines totales par une mesure réfractométrique, la détermination du rapport $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$ ne nécessite plus que 5 centimètres cubes de sérum.

2° L'étude du rapport $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$ n'a donné jusqu'ici que des résultats d'interprétation très difficile dans les différents états pathologiques où il a été recherché.

Il semble cependant qu'il existe une élévation de ce rapport :

Dans les maladies infectieuses ;

Dans les cancers étendus ;

Dans certains états d'insuffisance hépatique.

3° En ce qui concerne la syphilis, l'augmentation en valeur absolue et en valeur relative des globulines est

fréquemment observée, mais est incapable à elle seule de fournir l'explication de la réaction de Wassermann.

4° Chez les syphilitiques qu'il nous a été donné d'observer, le traitement arsenical a été suivi d'un abaissement du quotient albumineux, alors même que le Wassermann était resté positif.

Vu : le Président,
A. GILBERT

Vu : le Doyen,
H. ROGER

Vu et permis d'imprimer,
Le Recteur de l'Académie de Paris,
APPELL

COULOMMIERS
Imprimerie E. DESSAINT. — 6-24.